土壤杆菌重组菌株pACK403与烟草叶圆片共培养转化（简报）

李 英 王 钧

（中国科学院昆明植物研究所，昆明）
（中国科学院上海植物生理研究所，上海）

CO-CULTURE TRANSFORMATION OF TOBACCO LEAF DISC BY RECOMBINANT AGROBACTERIUM TUMAFACIENS STRAIN pACK 403

Li Ying[1], Wang Jun[1,2]

([1]*Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming*)
([2]*Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica, Shanghai*)

关键词 嵌合基因；pACK菌株；共培养转化
Key words Chimeric gene; pACK strain; Co-culture transformation

通过烟草花叶病毒外壳蛋白嵌合基因的重组工作，我们得到了在Ti质粒T-DNA区带嵌合的烟草花叶病毒外壳蛋白基因和NPT Ⅱ基因的土壤杆菌菌株——pACK403。通过与烟草叶圆片共培养转化，再生植株的筛选，观察在转化植物中表达的这种外壳蛋白能否延缓或减轻烟草花叶病毒对它们的危害。以期用基因工程手段使植物获得抗病毒的特性。

首先，将pACK403菌株在LB液体培养基上振荡培养过夜，得到菌液。然后将无菌烟草叶圆片漂浮在菌液表面轻微振荡处理一小时。取出叶圆片用无菌滤纸吸干菌液，放到MS培养基上（NAA 0.1mg/l，6-BA 1mg/l）共培养3天，再转到含有300mg/l卡那霉素、500mg/l头孢霉素、NAA 0.1mg/l、6-BA 1mg/l的MS培养基上培养。待长出芽后，切下芽放到100mg/l卡那霉素、500mg/l头孢霉素，无激素的MS培养基上生根。通过卡那霉素的抗性筛选，得到了300余株能表达抗卡那霉素活性的转化植株。用nopaline测定方法检测，确定转化植株中80%都含有nopaline。目前，用DNA杂交手段检测烟草花叶病毒外壳蛋白基因的工作正在进行中。